

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

PARIS

(11) N° de publication :
(A n'utiliser que pour les
commandes de reproduction).

2 482 860

A1

**DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION**

(21)

N° 81 10379

(54)

Composition et préparation d'un agent antimicrobien.

(51)

Classification internationale (Int. Cl. 3). A 61 K 31/475, 33/00 / C 07 D 491/00.

(22)

Date de dépôt..... 19 mai 1981.

(33) (32) (31)

Priorité revendiquée : EUA, 20 mai 1980, n° 151 706; 19 janvier 1981, n° 226 088.

(41)

Date de la mise à la disposition du
public de la demande..... B.O.P.I. — « Listes » n° 48 du 27-11-1981.

(71)

Déposant : VIPONT LABORATORIES INC., société établie selon la loi des EUA, résidant aux
EUA.

(72)

Invention de : Peter Ladanyi.

(73)

Titulaire : *Idem* (71)

(74)

Mandataire : Cabinet Charras,
3, place de l'Hôtel-de-Ville, 42000 Saint-Etienne.

L'invention concerne la composition et la préparation d'un agent antimicrobien qui peut être utilisé dans les préparations dentaires, savons chirurgicaux et autres, diverses autres préparations topiques, médicaments injectables, et autres applications pharmaceutiques. En particulier, l'invention se réfère aux compositions contenant des sels d'acides minéraux d'alcaloïdes benzophénanthridine mélangés avec un sel métallique, de préférence un sel métallique d'un acide minéral, bien que les sels des acides mono- et dicarboxyliques entre autres, puissent également être utilisés.

L'une des sources importantes de sanguinarine est une herbe vivace originaire d'Amérique du Nord, appelée Sanguinaria canadensis Linne (famille : papavéracées), couramment connue sous le nom de sanguinaire. La plante contient des alcaloïdes de benzophénanthridine comprenant de la sanguinarine, chélérythrine et plusieurs autres. Les principaux alcaloïdes présents sont la sanguinarine et la chélérythrine. La huitième édition de l'Indice Merck énumère les alcaloïdes comme la sanguinarine, chélérythrine, protopine et homochélidonine. Les produits chimiques purs, sanguinarine, chélérythrine et autres alcaloïdes de benzophénanthridine peuvent être isolés d'autres plantes outre la Sanguinaria. Ils existent également, même si c'est très rare, chez certaines maisons d'approvisionnement en produits chimiques. Des formes semi-purifiées des alcaloïdes existent dans le commerce, et on les désigne généralement sous l'appellation de nitrate de sanguinarine et sulfate de sanguinarine. Ces "sels" sont les sels des alcaloïdes mélangés de la plante Sanguinaria : essentiellement la sanguinarine, chélérythrine et protopine. Bien que l'on ne puisse trouver que peu de références dans la documentation concernant l'utilisation de certains des alcaloïdes de benzophénanthridine purs, les plantes contenant ces composés ont été utilisées à des fins médicales depuis déjà quelques temps, pour une large diversité d'aliments.

L'utilisation principale de la sanguinarine jusqu'à récemment encore, était un expectorant stimulant des sirops pour la toux, contenant du "nitrate de sanguinarine".

L'utilisation de la sanguinarine avec l'acide thiophosphorique dans divers néoplasmes humains et animaux, est présentée dans les Brevets Français N° 70.22029 et 2.152.972.

On a montré que la sanguinarine alcaloïde en solution

a des propriétés anti-moisissures et anti-protozoaires. La sanguinarine est appliquée comme émulsion localement aux infections dues aux moisissures. L'activité antibactérienne de la sanguinarine varie, on l'a constaté, avec les radicaux attachés, et on a
5 montré que divers sels de sanguinarine ont une certaine activité. On a constaté que le chlorhydrate et les sels de sulfate ont une certaine activité contre certaines bactéries à diverses concentrations. On rapporte que le nitrate de sanguinarine a une faible action bactériostatique sur divers types de bactéries.

10 La présente invention se réfère à la préparation et l'utilisation d'agents anti-microbiens formés en particulier à partir de sels d'acide minéral d'alcaloïdes benzophénanthridine et d'un sel métallique, et sont utiles dans les préparations dentaires, eaux dentifrice, rinçages, savons chirurgicaux, sham-
15 poings, crèmes, lotions, poudres, produits injectables, etc... et autres formes de préparation pharmaceutique et désinfectants. Les sels d'acide minéral des alcaloïdes benzophénanthridine peuvent être utilisés à diverses concentrations avec un sel métallique comme agent anti-microbien, utilisé pour traiter les infections
20 et maladies humaines et animales.

Les sels métalliques particulièrement utiles dans les formulations de la présente invention, englobent des sels métalliques d'acides halogènes. Parmi ces sels, on trouve le chlorure de zinc, le fluorure stanneux et le fluorure de sodium, bien que
25 l'on puisse utiliser n'importe quel sel métallique. Ceci englobe l'alcali, alcalinoterreux, et les fluorures de métaux denses, chlorures, bromures et iodures.

Bien que l'on préfère les sels métalliques non toxiques d'acides halogènes pour utilisation dans les formulations selon
30 la présente invention, on a constaté que les sels non toxiques d'autres acides, comme les acides minéraux et acides mono- et dicarboxyliques, sont également efficaces. Des exemples d'acides dont les sels métalliques non toxiques peuvent être utilisés, englobent l'acide sulfurique, l'acide nitrique et l'acide acétique.

35 Le glycérol est le véhicule préféré des formulations selon la présente invention, bien que d'autres véhicules qui puissent être utilisés englobent les solvants organiques comme le propylèneglycol, diméthylsulfoxyde (DMSO), les alcools inférieurs et similaires.

40 Par conséquent, l'objet et les avantages de la présente

invention, sont de fournir un agent antimicrobien de sels d'acide minéral d'un alcaloïde benzophénanthridine et un sel métallique, utile pour l'administration locale, produits injectables et autres formes de préparations pharmaceutiques.

- 5 Un autre objet de l'invention est de fournir une préparation de sel alcaloïde benzophénanthridine-sel métallique, pour le traitement des maladies périodontiques, prévention des caries dentaires et autres altérations de la cavité buccale similaires.

- Encore un autre objet de l'invention est de fournir une
10 préparation pharmaceutique d'un alcaloïde benzophénanthridine et d'un sel métallique, utile pour le traitement des infections de teigne tonsurante, acné, herpès à frigore et diverses infections parasitiques.

- Encore un autre objet de l'invention est de fournir une
15 préparation pharmaceutique d'un alcaloïde benzophénanthridine et d'un sel métallique, utile pour le traitement des diarrhées des animaux.

- Ces objets et avantages et d'autres objets et avantages de l'invention, peuvent être aisément constatés par la description
20 suivante et les exemples de préparation de l'invention.

- La préparation pharmaceutique de la présente invention peut être incorporée dans les préparations dentaires, dentifrices, eaux dentifrice, savons chirurgicaux et autres, véhicules pour applications locales, véhicules pour injection parentérale ou
25 intramusculaire, et similaires.

PREPARATION DE L'AGENT ANTIMICROBIEN

- Le produit chimique pur, soit sanguinarine, chélérythrine, soit
30 autres alcaloïdes benzophénanthridine, est dissous dans un mélange chloroforme/méthanol et acidifié avec un acide minéral comme l'acide chlorhydrique. Le mélange acide est évaporé jusqu'à siccité et le résidu est recristallisé à partir d'alcool éthylique/chloroforme, 50/50.

- 35 Pour l'utilisation, le sel d'acide minéral de l'alcaloïde benzophénanthridine est dissous soit dans l'eau désionisée, soit dans les alcools $C_1 - C_6$, glycérine, propylène glycol, vaseline officinale ou autres solvants organiques à 70 degrés centigrades, et
40 un sel métallique ou un acide formant sel, est ajouté aux solutions

ci-dessus.

Les préparations contiennent généralement 0,1 pour cent en poids et jusqu'à 20 pour cent en poids, de sel d'alcaloïde benzophénanthridine, et au moins 1 pour cent et jusqu'à 60 pour cent en poids, d'un sel métallique, le reste étant le solvant. La matière peut être diluée à la concentration souhaitée, suivant le type d'utilisation, avec les solvants énumérés ci-dessus.

Le sel d'alcaloïde benzophénanthridine est utilisé dans les préparations contenant 0,01 pour cent - 10 pour cent de benzophénanthridine en poids. Le sel métallique est présent en quantités variées d'environ 2 pour cent à environ 60 pour cent. Les concentrations plus faibles sont généralement efficaces pour le traitement de la plupart des maladies, comme indiqué ci-dessous :

15 Un exemple de préparation de base :

Chlorure de sanguinarine	0,3 pour cent
glycérine U.S.P.	64,7 pour cent
chlorure de zinc AR	35,0 pour cent

La préparation de base peut être modifiée en utilisant, au lieu du chlorure de sanguinarine, 0,3 pour cent d'un autre sel d'acide minéral d'un alcaloïde benzophénanthridine, comme le chlorure de chélérythrine.

Un second exemple de préparation est :

25 Chlorure de sanguinarine	1,0 pour cent
glycérine U.S.P.	96,0 pour cent
chlorure de zinc AR	3,0 pour cent

Un troisième exemple d'une telle préparation est :

30 Chlorure de sanguinarine	1,0 pour cent
glycérine U.S.P.	64,0 pour cent
chlorure de zinc AR	35,0 pour cent

Un quatrième exemple d'une telle préparation pour usage dentaire est :

35 Chlorure de sanguinarine	1,0 pour cent
glycérine U.S.P.	95,6 pour cent
chlorure de zinc AR	3,0 pour cent
fluore stanneux	0,4 pour cent

- 5 -

Les formulations complémentaires pour une préparation de base sont les suivantes :

	chlorure de sanguinarine	1,0 pour cent
	fluorure stanneux	0,4 pour cent
5	glycérine U.S.P.	98,6 pour cent
	et	
	Chlorure de sanguinarine	1,0 pour cent
	fluorure de sodium	3,0 pour cent
	glycérine U.S.P.	96,0 pour cent

10

De nombreux types de maladies ont été traités chez les humains et chez les animaux avec la composition de la présente invention, comme suit :

Exemple 1 - teigne tonsurante canine.

- 15 Une solution à 5 - 10 pour cent de la première préparation de base a été utilisée, appliquée directement à la zone infectée, une à trois applications, comme indiqué, à intervalles de 48 heures.

Exemple 2 - Teigne tonsurante féline.

- 20 Une solution à 4 - 8 pour cent de la première préparation de base a été appliquée directement à la zone infectée, à intervalles de 48 heures, jusqu'à trois applications.

Exemple 3 - Teigne tonsurante bovine.

- 25 L'agent étiologique de cette complication est habituellement la moisissure connue sous le nom de Trychophyton album. La durée de la maladie va de 4 à 12 mois.

- On utilise une dilution à 30 pour cent de la première préparation de base appliquée directement aux zones concernées, toutes les 30 48 heures. Trois applications se sont révélées adéquates pour le traitement de cet état, avec succès.

Exemple 4 - Diarrhée néo-natale bovine.

- Douze animaux ayant présenté le diagnostic confirmé de diarrhée 35 néo-natale, ont été traités avec 0,75 grammes de la première préparation de base, oralement, une fois par animal, et ont présenté une guérison clinique à une exception.

- Ceci constitue un excellent résultat, compte tenu de ce que la 40 thérapie antibiotique traditionnelle actuellement utilisée, a un pourcentage de succès bien inférieur.

- Le chlorure de sanguinarine et le chlorure de chélérythrine ont de fortes propriétés antimicrobiennes. Le chlorure de zinc a des propriétés antimicrobiennes uniquement à des concentrations élevées. On peut voir, d'après le tableau I, que le chlorure de sanguinarine mélangé au chlorure de zinc, dans un rapport 1/1, en règle générale, n'a pas présenté d'effet synergique ou même une action en plus contre la plupart des micro-organismes testés in vitro. De plus, on a constaté que dans la plupart des cas, l'action antimicrobienne du mélange de chlorure de sanguinarine et de chlorure de zinc, a dépendu essentiellement de la quantité de chlorure de sanguinarine présente dans le mélange, et a été relativement indépendante de la quantité de chlorure de zinc.

15 TABLEAU I

		Dose moyenne inactivante en microgrammes par millilitre (ug/ml) de milieux.		
<u>Micro-organismes</u>		<u>ZnCl₂</u>	<u>Chlorure de sanguinarine</u>	<u>ZnCl₂ & Chlorure de sanguinarine (1/1)</u>
20	<u>Bacillus subtilis</u>	25.000	22	1.000
	<u>Escherichia coli</u>	6.250	270	500
	<u>Klebsiella pneumoniae</u>	3.125	540	1.000
	<u>Proteus vulgaris</u>	12.500	590	1.000
	<u>Staphylococcus aureus</u>	6.250	70	500
25	<u>Streptococcus faecalis</u>	25.000	393	500
	<u>Streptococcus mutans</u>	1.563	161	63
	<u>Candida Albicans</u>	-----	150	-----
	<u>Saccharomyces cerevisiae</u>	6.250	20	63
30	<u>Pseudomonas aeruginosa</u>	3.500	7.000	400

- Un essai séparé a été réalisé pour déterminer la concentration inhibitoire du chlorure de sanguinarine seul. Ces concentrations, pour les micro-organismes in vitro, sont les suivantes :
- | | | | | |
|-----|---|---|---|------------------------------|
| 100 | " | " | " | <u>Escherichia coli</u> |
| 100 | " | " | " | <u>Candida Albicans</u> |
| 50 | " | " | " | <u>Streptococcus mutans</u> |
| 10 | " | " | " | <u>Staphylococcus aureus</u> |

On a, de plus, constaté qu'une concentration de chlorure de sanguinarine de 25 microgrammes/millilitre, a provoqué une réduction de 100 pour cent de la plaque dentaire, en inactivant les micro-organismes formant la plaque, récemment prélevés de la plaque dentaire humaine. Le chlorure de sanguinarine s'est comparé favorablement in vitro à la chlorhexidine (Hibitane^R), matière utilisée comme norme pour l'évaluation des micro-organismes formant la plaque dentaire humaine.

Cependant, dans des conditions d'essais in vivo, on a constaté que le chlorure de sanguinarine est inefficace contre les micro-organismes de formation de la plaque.

Lorsque l'on a appliqué le chlorure de sanguinarine à la zone affectée des chiens et des humains, un traitement répété avec le chlorure de sanguinarine seul, n'a pas réduit la plaque dentaire ni diminué les symptômes de gingivite ou de maladie périodontique. Un traitement continu au chlorure de sanguinarine n'a pas empêché l'accumulation de plaque dentaire sur les dents, ni l'apparition de maladie périodontique. Cependant, on a constaté qu'une combinaison de chlorure de sanguinarine et de chlorure de zinc dans la glycérine, est efficace in vivo, pour la réduction de la plaque dentaire et l'apparition de maladie périodontique, et s'est montrée définitivement prometteuse pour le traitement et la prévention de la maladie périodontique humaine.

Les résultats des essais sur les cobayes avec provocation d'infection de teigne tonsurante, les chiens avec maladie périodontique et les humains avec maladie périodontique, ont montré que les préparations de glycérine, du chlorure de sanguinarine plus du chlorure de zinc, sont bien supérieures pour la maîtrise des infections in vivo, soit au chlorure de zinc seul, soit au chlorure de sanguinarine seul.

Lorsque l'on a remplacé le chlorure de zinc par un sel de fluorure dans les préparations présentes, l'activité de la préparation contre les micro-organismes que l'on croyait associée à la causalité des caries dentaires et maladie périodontique (strep-tococcus mutans), ainsi qu'à d'autres micro-organismes, est restée identique. Les données soutenant ce phénomène sont présentées dans les tableaux suivants :

TABLEAU II

TABLEAU II

Concentrations inhibitoires minimales (MIC) en ug/ml			
5	MICRO-ORGANISME	1,0% de chlorure de sanguinarine	1,0% de chlorure de sanguinarine
	AEROBIE TESTE.	3,0% de chlorure de zinc dans <u>glycérol</u>	0,4% de fluorure de stanneux dans <u>glycérol</u>
10	<u>Escherichia coli</u>	158	160
	<u>Klebsiella pneumoniae</u>	158	160
	<u>Proteus vulgaris</u>	---	---
	<u>Streptococcus mutans</u>	79	80
	<u>Streptococcus faecalis</u>	< 20	< 20
15	<u>Staphylococcus aureus</u>	< 20	< 20
	<u>Pseudomonas aeruginosa</u>	630	1.280
	<u>Saccharomyces cerevisiae</u>	< 20	< 20
	<u>Candida albicans</u>	79	< 20

20

TABLEAU III

Concentrations inhibitoires minimales (MIC) en ug/ml			
	MICRO-ORGANISME	1,0% de chlorure de sanguinarine	1,0% de chlorure de sanguinarine
25	ANAEROBIES TESTES	3,0% de chlorure de zinc dans glycérol	0,4% de fluorure stanneux dans glycérol
	<u>Bacteroides melaninogenicus</u>	8	8
30	<u>Eikenella corrodens</u>	32	32
	<u>Actinomyces viscosus</u>	8	8
	<u>Actinobacillus actinomycetemcomitans</u>	16	16
35	<u>Capnocytophaga gingivalis</u>	8	8
	<u>Capnocytophaga sputigena</u>	8	8

TABLEAU IV

(TABLEAU IV)

Concentrations bactéricides minimales
(MBC) en ug/ml

MICRO-ORGANISME	1,0% de chlorure de sanguinarine	1,0% de chlorure de sanguinarine
	3,0% de chlorure de zinc dans glycérol	0,4% de fluorure stanneux dans glycérol
<u>Escherichia coli</u>	158	160
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	1.261	640
10 <u>Proteus vulgaris</u>	2.522	640
<u>Streptococcus mutans</u>	158	160
<u>Streptococcus faecalis</u>	315	160
<u>Staphylococcus aureus</u>	158	80
<u>Pseudomonas aeruginosa</u>	2.522	2.560
15 <u>Saccharomyces cerevisiae</u>	20	20
<u>Candida albicans</u>	79	160

Le phénomène ci-dessus n'est pas ce à quoi l'on s'attendrait au vu des résultats des essais in vitro. Dans la plupart des cas, le chlorure de sanguinarine in vivo n'a été que légèrement efficace ou pas du tout. Ceci a été tout à fait inattendu, compte tenu de ce que, in vitro, toute l'activité antimicrobienne d'un mélange de chlorure de sanguinarine - sel de métal, a pu être expliquée par la quantité de sanguinarine présente dans le mélange.

Des essais cliniques contrôlés sur 24 chiens bigles mâles, ont montré qu'après quatre semaines de traitement, les chiens traités au mélange de chlorure de zinc - chlorure de sanguinarine - glycérine, avaient les scores les plus bas de plaque et de gingivite, alors que les chiens traités au chlorure de sanguinarine seul avaient les scores les plus élevés. Les chiens ont été traités localement quotidiennement, avec la formulation d'essai respective.

Les résultats présentés au tableau V indiquent clairement que le groupe de chiens traités au chlorure de sanguinarine - chlorure de zinc dans la glycérine, avait des scores plus bas de gingivite, après quatre semaines de traitement, que les autres groupes. Le chlorure de zinc seul n'a présenté aucune activité in vivo du tout. Ce résultat est inattendu, compte tenu de ce que, in vitro, le chlorure de sanguinarine est tout à fait efficace contre les micro-organismes.

TABLEAU V.

Etudes cliniques orales - Bigles (chiens)

<u>Traitement</u>		<u>0 (départ)</u>	<u>Après 4 semaines</u>
		Scores moyens de gingivite.	
5	Aucun	0,475	0,91
	0,1% de chlorure de sanguinarine	0,495	0,942
	2,7% de chlorure de zinc	0,44	0,75
	0,1% de chlorure de sanguinarine		
10	avec 2,7% de chlorure de zinc		
	dans la glycérine	0,418	0,548
		Scores moyens de plaque	
	Aucun	7,478	12,408
15	0,1% de chlorure de sanguinarine	8,885	12,89
	2,7% de chlorure de zinc	8,76	10,15
	0,1% de chlorure de sanguinarine		
	avec 2,7% de chlorure de zinc		
	dans la glycérine	8,578	7,407
20			
		Profondeurs moyennes de cavité	
	Aucun	1,459	1,458
	0,1% de chlorure de sanguinarine	1,415	1,48
	2,7% de chlorure de zinc	1,46	1,37
25	0,1% de chlorure de sanguinarine		
	avec 2,7% de chlorure de zinc		
	dans la glycérine	1,445	1,44

Des résultats similaires se sont produits, lorsque l'on a estimé les chiens pour le retour des plaques dentaires (voir tableau V pour les scores de plaque), le chlorure de sanguinarine seul n'a pas été actif in vivo. Le chlorure de zinc a été légèrement préventif, mais la préparation de chlorure de sanguinarine - chlorure de zinc dans la glycérine, a empêché non seulement le retour et la prolifération ultérieure de la plaque dentaire, mais de plus, l'a considérablement réduite pendant les 4 semaines de traitement.

Les données indiquent également que même les profondeurs de cavité ont été réduites quelque peu, par les matières de traitement contenant du chlorure de zinc dans la glycérine, ou du

chlorure de zinc - chlorure de sanguinarine dans la glycérine.

Dans un essai clinique impliquant vingt patients volontaires avec maladie périodontique, on a observé qu'après le traitement avec le chlorure d'alcaloïde benzophénanthridine - chlorure de zinc dans la glycérine, il y a eu une amélioration rapide. L'inflammation, l'infection et les cavités ont été éliminées, les abcès ont cessé, le tongingival s'est nettement amélioré, les tissus ont guéri, et dans certains cas, un tissu normal s'est rétabli et la mobilité des dents s'est réduite.

Les études cliniques ci-dessus ont montré que le chlorure de sanguinarine in vivo n'était que légèrement antimicrobien, agissant très lentement, ou n'avait pas d'effet sur le développement de l'infection du tout.

Le chlorure de zinc aux concentrations nécessaires in vivo pour avoir une action antimicrobienne, a provoqué un blanchiment du tissu, et dans certains cas, des brûlures chimiques et autres détériorations de tissu. De plus, on a constaté que le chlorure de zinc agit lentement in vivo, comme agent antimicrobien.

Les préparations de glycérine contenant du chlorure de sanguinarine ou autres alcaloïdes benzophénanthridine et chlorure de zinc ou fluorure stanneux ou fluorure de sodium, ont agit rapidement, n'exigeant qu'une à trois applications pour éliminer rapidement les infections. De plus, ces préparations n'ont pas semblé avoir les effets indésirables du chlorure de zinc à la concentration nécessaire pour obtenir l'efficacité anti-microbienne.

Exemple 5 - Maladie périodontique humaine.

On a signalé que la maladie périodontique (gencives) affecte 2 américains d'âge moyen sur 3. La destruction du tissu et des structures qui retiennent fermement les dents dans leur cavité explique 75 pour cent des pertes de dents avant l'âge de 40 ans. La plupart des cas de maladie périodontique résultent de négligence et peuvent en grande partie, être empêchés par un programme régulier d'hygiène approfondie. Dans le type le plus courant de maladie périodontique, les trois principaux coupables, sont les bactéries, le calcul (tartre) et les fragments de produits alimentaires.

L'invention a été utilisée par des dentistes pour le traitement clinique de plus de quarante cas de divers types de maladie périodontique humaine.

Dans certains cas, même un traitement simple a apporté des améliorations majeures des conditions des gencives malades. La guérison clinique résultant du traitement a été tout à fait apparente et a comporté : élimination de l'inflammation, ton
5 normal de tissu rétabli, les cavités ont été éliminées, les infections ont disparu, la mobilité a été réduite, et le ton gingival a été nettement amélioré.

Les matières et les méthodes utilisées ont été les suivantes :

10 1. Pâte non diluée pour bourrage :

Dans les cas d'implication de tissu largement répandue, la préparation non diluée a été utilisée en quantité suffisante (q.s) pour "couvrir" ou "bourrer" les zones infectées ou enflammées des tissus gingivaux. Le processus clinique a consisté en deux traitements
15 distants d'environ 2 semaines, avec l'application d'au moins une épaisseur de 1,0 mm de la préparation de base à la membrane périodontique malade. Dans le cas où l'on a utilisé de la matière non diluée, elle a été appliquée soit localement avec une spatule, soit 0,25 ml ont été comprimés par une aiguille de calibre 22 fixée à une seringue sous pression de 1,0 ml. La matière a été
20 introduite dans les gencives à l'accessoire (q.s) pour remplir la cavité et la médication a été laissée en place pendant 10-15 minutes.

25 2. Technique de la ficelle : ficelle de coton saturée de préparation pharmaceutique.

Dans le cas où des dents individuelles ont dû être traitées, une ficelle de coton doux ordinaire, stérilisée avant usage, ou "gingipak", a été utilisée (gingipak contient une solution 8-100 de chlorhydrate d'adrénaline racémique et 1 pour cent d'alcool

30 benzylique comme antiseptique.

Les ficelles de coton de 1 - 1,5 cm de long, ont été saturées de matière non diluée en utilisant une spatule et des morceaux pré-découpés de ficelle qui ont ensuite été imprégnés sur un tampon de mélange de dentiste. Ces ficelles, une fois bien imprégnées de
35 la préparation, pèsent environ 35 mg/cm.

Une à trois ficelles ont été utilisées par dent, suivant la circonférence de la dent. On a parfois utilisé jusqu'à trois ficelles pour un total d'environ 10,5 mg de la préparation. Les ficelles imprégnées ont été laissées en place 10-15 minutes.

40 De la soie grège dentaire ou substrat similaire, comme de la fi-

celle en fibres creuses synthétiques, peuvent être imprégnés de la préparation de base, pour utilisation lors du traitement des dents et gencives.

3. Dilution de la pâte pour irrigation.

- 5 En plus du bourrage de la membrane périodontique ou de l'emploi de la technique de la "ficelle" sur les dents individuelles, l'irrigation a souvent été utilisée couramment, comme partie du régime. Généralement, la membrane périodontique malade a d'abord été bourrée de préparation non diluée ou les dents ont été traitées individuellement par la technique de la ficelle décrite ci-
- 10 dessus.

Ces méthodes de traitement ont été suivies par l'irrigation avec une suspension de la préparation, soit dans l'eau soit dans la glycérine. Les suspensions ont été préparées pour contenir une

15 partie de matière à concentration totale/1partie de glycérine ou 1 partie d'eau, suivant si l'on souhaite une suspension à la glycérine ou à l'eau. La suspension finale a été un mélange V/V d'une partie de matière pour 1 partie de diluant. L'irrigation a été réalisée en remplissant une seringue de 7,0 ml pour contenir

20 420 mg de suspension. Pour le traitement des dents individuelles, un total de 1,0 ml de matière en suspension a été utilisé pour irriguer les zones buccale, linguale et proches de la dent. Lorsqu'indiqué, toutes les dents ont été irriguées avec 840 mg de suspension contenue dans deux seringues.

25

Exemple 6 - Caries dentaires.

Des préparations contenant environ 0,3% de chlorure de sanguinarine et environ 35% de chlorure de zinc ont été utilisées sur sept patients ayant des caries dentaires. La carie a été enlevée des dents

30 avec une gouge en cuillère laissant une couche de tissu carié d'environ 1 mm à 1,5 mm de profondeur. La préparation antimicrobienne a été placée sur le reste de la carie, environ 56,1 mg de préparation, avec un couteau Hollenbeck, et a été appliquée uniformément sur la zone cariée, avec un morceau de coton tenu dans des pinces

35 à coton. De la matière reconstituante intermédiaire (IRM) a été utilisée comme reconstituant temporaire pour étancher la matière dans la préparation de la cavité.

Après plusieurs semaines (6 semaines), des éprouvettes pour les études bactériologiques et histologiques, y compris microscopie

40 électronique, ont été prélevées.

Les conclusions des chercheurs ont été que la préparation pourrait être considérée comme un agent cariostatique. De plus, la matière peut activer la formation de dentine sclérotique, formant ainsi un plancher protecteur dur, entre la lésion cariée et la pulpe.

La composition chlorure de benzophénanthridine - chlorure de zinc - glycérine, peut être utilisée en liaison avec un composé fournissant du fluorure. Ces composés sont caractérisés par l'aptitude à dégager des ions fluorure dans l'eau, et par l'absence substantielle de réaction avec d'autres composés présents dans la préparation orale. Parmi ces matières, il y a les sels de fluorure inorganique comme les sels métalliques alcalins, métalliques alcalino-terreux, et sels de métaux lourds. Les fluorures d'étain et métaux alcalins, comme les fluorures de sodium et stanneux, et mélanges de ceux-ci, sont préférés.

La quantité de composé fournissant du fluorure dépend dans une certaine mesure, du type de composés, de sa solubilité, et du type de préparation orale, mais ce doit être une quantité non toxique. On peut utiliser toute quantité minimale adéquate de ce composé, mais il est préférable d'employer un composé suffisant pour dégager de 0,005% à 1%, et de préférence environ 0,1% en poids d'ion fluorure. Typiquement, dans les cas de fluorure de métal alcalin et fluorure stanneux, ce composé est présent dans une quantité allant jusqu'à 3% en poids, en se basant sur le poids de la préparation, et de préférence de l'ordre de 0,05% à 1%.

Exemple 7 - Traitement des tumeurs de la peau chez les animaux.

Sarcoïde équin (une tumeur du tissu cellulaire localement maligne constatée sur la peau des chevaux semblable aux fibro-sarcomes.

qui se produisent chez d'autres animaux et chez l'homme) : probablement d'origine virale, transmissible entre chevaux. Ces tumeurs sont envahissantes et résultent couramment dans l'affaiblissement suffisant du cheval pour réaliser l'euthanasie.

L'extraction chirurgicale est le moyen de thérapie accepté. La récurrence de la tumeur est la règle plutôt que l'exception.

Soixante tumeurs ont été traitées avec la préparation en employant la méthode de traitement suivante :

soit étaler la première préparation de base sur la tumeur, avec un applicateur en bois, bandage, et observer à 24 heures d'intervalles, soit placer environ 3 mm d'épaisseur de préparation sur

un tampon Telfa (R) couvrant une zone légèrement supérieure à la surface de base de la tumeur, en fixant le tampon Telfa (R) sur la tumeur avec un bandage. Observer à 24 heures d'intervalles. Répéter l'application si besoin est, après 48 heures.

- 5 3 ou 4 applications ou plus, peuvent être nécessaires dans les cas de longue durée et si la tumeur est profonde. La récédive de la tumeur s'est produite, seulement dans 25 pour cent des cas. Dans tous les cas, les tumeurs ont été enlevées par l'action excisante de la préparation, et en aucun cas ainsi traité, une
- 10 infection après traitement (infection secondaire) ne s'est produite. Ceci a été vrai malgré le fait qu'aucune couverture n'a été maintenue sur les lésions après l'extraction de la tumeur, et l'on n'a pas non plus, appliqué une forme quelconque d'autre médication antibactérienne.
- 15 Après la 2ème ou 3ème application, la tumeur s'est détachée, une croûte très ferme s'est formée sur la base de la tumeur, et la cicatrisation s'est déroulée sous la croûte. La cicatrisation de la blessure a été lente, mais sans incidents. Les croûtes restantes ont été très petites.

20

Exemple 8 - fibro-sarcomes dermiques équins.

- 75 cas de fibro-sarcomes dermiques équins ont été traités localement suivant description à l'exemple 7. Seulement 20 pour cent des tumeurs ont récidivé dans la période d'observation d'un an. Alors
- 25 que le pourcentage de guérison est quelque peu inférieur à 80%, ceci supporte favorablement la comparaison avec le pourcentage de guérison approximatif de 55% de cette tumeur, après extraction chirurgique et radiothérapie.

30 Exemple 9 - cancer cellulaire squameux bovin

Sept bovins de Hereford présentant la maladie ont été traités avec environ 15 g de la première préparation de base appliquée directement sur les lésions. L'amélioration de l'état clinique s'en est suivie dans tout les cas.

35

Exemple 10 - traitement du cancer cellulaire squameux et cancer baso-cellulaire chez les animaux des espèces non bovines.

- Espèce canine - cancer cellulaire squameux histologiquement confirmé des deux yeux ; cinq applications avec la première prépa-
- 40 ration de base, en cinq jours : dans un délai de deux semaines,

les tumeurs ont réduit en grosseur et se détachaient.

5 Espèce équine - le cancer baso-cellulaire histologiquement confirmé, a été traité par six applications locales directes de la préparation localement, une fois par jour. En trois semaines, la plupart des tumeurs visibles avaient disparu.

10 Espèce équine - cancer de follicule pileux histologiquement confirmé sur le poitrail ; tumeur enlevée par chirurgie ; dix applications locales de la préparation dans la blessure ouverte. En trois mois, la lésion a cicatrisé et aucune récurrence de la tumeur n'a été notée.

Exemple 11 - traitements des tumeurs de la peau chez l'homme.

15 Epithélioma baso-cellulaire:

Une équipe de dermatologues qualifiés et de chirurgiens a traité soixante patients avec épithélioma baso-cellulaire diagnostiqué et histologiquement confirmé (cancer baso-cellulaire).

20 La première préparation de base a été appliquée directement localement à la zone concernée et a été maintenue en place par un bandage. Les lésions ont été observées à intervalles de 48 heures et la préparation a été réappliquée si ceci était indiqué.

25 Dans la plupart des cas, 2-3 applications ont été adéquates. La guérison clinique a suivi le traitement dans tous les cas et aucune récurrence des tumeurs n'a été notée sur une période de 4 ans.

Exemple 12 - Cancer cellulaire squameux.

30 Seize cas de cancer cellulaire squameux histologiquement confirmé ont été traités par la même méthode que celle utilisée à l'exemple 11. Dans tous les cas traités, la guérison clinique a suivi le traitement et uniquement dans un cas, il y a eu récurrence de la tumeur dans un délai de 4 ans.

Exemple 13 - Activité anti-microbienne.

35 Afin d'illustrer l'efficacité anti-microbienne de la composition conformément à la présente invention, une série d'essais in vitro et in vivo a été réalisée. Ces essais ont été conçus pour démontrer la plus basse concentration de chlorure de sanguinarine qui inactivera les micro-organismes.

Les constatations ont été les suivantes :

En moyenne, une solution de 22 ug/ml de chlorure de sanguinarine inactivera les cultures des bactéries Bacillus subtilis, une solution de 270 ug/ml, les cultures d'Escherichia coli, une solution de 540 ug/ml, les cultures de Klebsiella pneumoniae, une solution de 590 ug/ml, les cultures de Proteus vulgaris, une solution de 70 ug/ml, les cultures de Staphylococcus aureus, une solution de 393 ug/ml, les cultures de Streptococcus faecalis, et une solution de 161 ug/ml, les cultures de Streptococcus mutans (voir tableau I).

De plus, en moyenne, une solution de 150 ug/ml et 20 ug/ml inactive également les cultures de ferments Candida albicans et Saccharomyces cerevisiae. Une concentration considérablement inférieure à la concentration d'inactivation de la préparation pharmaceutique est utile comme inhibiteur de développement des mêmes organismes.

En outre, en moyenne, une concentration de chlorure de sanguinarine présentée au tableau VI a été suffisante par centimètre cube de milieu, pour empêcher le développement de certains fungi connus, comme appartenant au groupe des organismes produisant des teignes tonsurantes.

TABEAU VI

Micro-organismes	Dose moyenne inhibitrice de chlorure de sanguinarine en ug/ml de milieu
<u>Microsporum canis</u>	867
<u>Microsporum nanum</u>	650
<u>Trichophyton mentagrophytes</u>	900
<u>Trichophyton schoenleini</u>	467
<u>Trichophyton terrestre</u>	467
<u>Trichophyton vanbreuseghemi</u>	750.

Les préparations de base, ont été en de nombreuses occasions, également testées sur une diversité d'animaux et également d'humains infectés de teigne tonsurante et fungus de pied d'athlète. On a constaté que les préparations conformément à la présente invention, hâteront considérablement la guérison de l'infection de teigne tonsurante et faciliteront la guérison rapide des lésions.

Les résultats des essais cliniques effectués par de

nombreux dentistes et organismes dentaires confirment que l'application régulière de la composition de l'invention aux surfaces des dents réduira l'apparition de caries dentaires et l'utilisation sur les gencives, soit par bourrage, soit par irrigations, empêchera ou guérira rapidement la maladie périodontique ou les infections microbiennes des gencives et des tissus environnants.

L'application des compositions de la présente invention aux herpès a frigore hâte énormément le processus de guérison. Les herpès a frigore sèchent et cicatrisent en quelques jours.

Lorsque les animaux souffrant de diarrhées sont traités de façon interne avec des préparations conformément à la présente invention, le taux de guérison dépasse celui des antibiotiques couramment utilisés pour le traitement des diarrhées.

RE V E N D I C A T I O N S

- 1- Procédé pour la préparation d'un agent anti-microbien caractérisé en ce qu'il comprend les phases suivantes :
- 5 a) la dissolution d'un alcaloïde benzophénanthridine dans un mélange de chloroforme et de méthanol ;
 - b) l'acidification de la solution avec un acide minéral pour transformer l'alcaloïde en un sel d'alcaloïde ;
 - c) l'évaporation de la solution acide jusqu'à la siccité ;
 - 10 d) la recristallisation du résidu à partir d'un mélange de 50 pour cent d'éthanol et 50 pour cent de chloroforme ;
 - e) la dissolution des cristaux dans un solvant pour faire une solution d'au moins 0,3 pour cent en poids de cristaux ;
 - f) le mélange de la solution avec au moins 35 pour cent en poids
 - 15 d'un sel métallique d'un acide.

- 2- Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que le solvant est choisi à partir du groupe comprenant de l'eau, glycérine, propylène glycol, vaseline officinale, diméthylsulfoxyde,
- 20 et alcools $C_1 - C_6$.

- 3- Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'alcaloïde de benzophénanthridine est choisi à partir du groupe comprenant la chélérythrine, la sanguinarine, la protopine et
- 25 l'homochélidonène.

- 4- Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'alcaloïde est la chélérythrine.

- 30 -5- Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'alcaloïde est la sanguinarine.

- 6- Une composition antimicrobienne caractérisée en ce qu'elle renferme un sel d'acide minéral d'un alcaloïde de benzo-
- 35 phénanthridine et un sel métallique d'un acide dans un solvant choisi à partir du groupe comprenant l'eau, la glycérine, le propylène glycol, diméthylsulfoxyde, et alcools $C_1 - C_6$.

- 7- La composition selon la revendication 6, caractérisée
- 40 en ce que l'alcaloïde de benzophénanthridine est choisi à partir

du groupe comprenant la chélérythrine, la sanguinarine, la protopine et l'homochélidonène.

5 -8- La composition selon la revendication 7, caractérisée en ce que l'alcaloïde est la sanguinarine.

 -9- La composition selon la revendication 6, caractérisée en ce que le solvant est la glycérine.

10 -10- La composition selon la revendication 9, caractérisée en ce que le sel d'acide minéral est le chlorure de sanguinarine.

15 -11- La composition selon la revendication 10, caractérisée en ce que le sel de métal est un sel de fluorure choisi à partir du groupe comprenant le fluorure stanneux et le fluorure de sodium.

20 -12- La composition selon la revendication 11, caractérisée en ce que le sel du fluorure est le fluorure stanneux.

 -13- La composition selon la revendication 9, caractérisée en ce que le sel métallique est le chlorure de zinc.

25 -14- La composition selon la revendication 6, caractérisée en ce que l'alcaloïde est la chélérythrine.

30 -15- La composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que le sel d'acide minéral est le chlorure de chélérythrine.

 -16- Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle contient une quantité de la composition ^{définie} selon la revendication 6 utile pour le traitement des infections chez les mammifères.

35 -17- Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle contient une quantité de la composition définie selon la revendication 15 utile pour le traitement des infections chez les mammifères.

-13- Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle contient une quantité de la composition définie selon la revendication 6 utile pour le traitement de la teigne tonsurante chez les mammifères.

5

-19- Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle contient une quantité de la composition définie selon la revendication 13 utile pour le traitement de la teigne tonsurante chez les mammifères.

10

-20- Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle contient une quantité de la composition définie selon la revendication 6 utile pour le traitement de la diarrhée chez les mammifères.

15

-21- Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle contient une quantité de la composition définie selon la revendication 13 utile pour le traitement de la diarrhée chez les mammifères.

20

-22- Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle contient une quantité de la composition définie selon la revendication 6 utile pour le traitement de maladie périodontique.

25

-23- Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle contient une quantité de la composition définie selon la revendication 10 utile pour le traitement de maladie périodontique.

30

-24- Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle contient une quantité de la composition définie selon la revendication 6 utile pour le traitement des caries dentaires.

35

-25- Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle contient une quantité de la composition définie selon la revendication 10 utile pour le traitement des caries dentaires.

-26- Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle contient une quantité de la composition définie selon

40

la revendication 6 utile pour le traitement des tumeurs de la peau chez les mammifères.

5 -27- Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle contient une quantité de la composition définie selon la revendication 13 utile pour le traitement des tumeurs de la peau chez les mammifères.

10 -28- Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle contient une quantité de la composition définie selon la revendication 6 utile pour le traitement du cancer cellulaire squameux chez les mammifères.

15 -29- Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle contient une quantité de la composition définie selon la revendication 13 utile pour le traitement du cancer cellulaire squameux chez les mammifères.

20 -30- Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle contient une quantité de la composition définie selon la revendication 6 utile pour le traitement des caries dentaires

25 -31- Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle contient une quantité de la composition définie selon la revendication 11 utile pour le traitement des caries dentaires.

30 -32- Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle contient une quantité de la composition définie selon la revendication 6 utile pour le traitement de la gingivite et la périodontite.

35 -33- Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle contient une quantité de la composition définie selon la revendication 11 utile pour le traitement de la gingivite et de la périodontite.

40 -34- Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle contient une quantité de la composition définie selon la revendication 6 utile pour le traitement de la gingivite.

-35- Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle contient une quantité de la composition définie selon la revendication 10 utile pour le traitement de la gingivite.

5 -36- La composition selon la revendication 13, caractérisée en ce qu'elle comprend 0,1 - 3% d'un sel de fluorure choisi à partir du groupe comprenant le fluorure stanneux et le fluorure de sodium.

-37- Une composition anti-microbienne caractérisée en ce qu'elle comprend un sel d'acide minéral d'un alcaloïde de benzophénanthridine et un sel métallique non toxique d'un acide dans un véhicule solvant adéquat.

10 -38- La composition anti-microbienne selon la revendication 37 caractérisée en ce que le sel métallique non toxique est choisi à partir du groupe comprenant les fluorures, chlorures, bromures, iodures, sulfates, nitrates, et acétates.

15 -39- La composition antimicrobienne selon la revendication 37, caractérisée en ce que l'alcaloïde de benzophénanthridine est choisi à partir du groupe comprenant la chélérythrine, la sanguinarine, la protopine et l'homochélidonène.